



Cara uji kimia-Bagian 9: Penentuan residu kloramfenikol dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada produk perikanan



© BSN 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Mangala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	iii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Prinsip.....	1
4 Peralatan	1
5 Pereaksi.....	2
6 Penyiapan larutan baku pembanding kloramfenikol	2
7 Prosedur	2
8 Kondisi KCKT	2
9 Perhitungan	3
10 Pelaporan	3
11 Keamanan dan keselamatan kerja	3
Bibliografi.....	4

Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan terhadap komoditas produk perikanan yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode uji yang dapat memenuhi jaminan tersebut.

Standar ini disusun oleh Panitia Teknis 65-05 Produk Perikanan. Standar ini dirumuskan melalui rapat teknis dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 21 Desember 2006 di Bogor serta dihadiri oleh anggota Panitia Teknis 65-05 Produk Perikanan.

Berkaitan dengan penyusunan Standar Nasional Indonesia ini, maka aturan-aturan yang dijadikan dasar atau pedoman adalah :

1. Undang-Undang No. 31 Tahun 2004 tentang Perikanan.
2. Undang-Undang No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan.
3. Peraturan Pemerintah No. 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. KEP. 01/MEN/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. KEP. 06/MEN/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Mauk ke Wilayah Republik Indonesia.
6. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. KEP. 21/MEN/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 16 Juli 2007 sampai dengan 16 Oktober 2007 dan pemungutan suara pada tanggal 21 Oktober 2008 sampai dengan 21 Januari 2009 dengan hasil akhir RASNI.

Cara uji kimia-Bagian 9: Penentuan residu kloramfenikol dengan KCKT pada produk perikanan

1 Ruang lingkup

Standar ini digunakan untuk menentukan residu kloramfenikol produk perikanan terutama produk budidaya.

2 Istilah dan definisi

2.1

antibiotik

bahan kimia yang berasal dari jamur atau bakteri yang dapat membunuh mikroorganisme dan mengobati infeksi

2.2

kloramfenikol

antibiotik yang diperoleh secara alami dari biakan bakteri *Streptomyces venezuelae* atau diproduksi secara sintetik yang aktif terhadap beberapa jenis bakteri antara lain bakteri aerobik dan anaerobik, *mycoplasma*, organisme *chlamyda*

2.3

metode analisa secara KCKT

suatu teknik analisa kualitatif dan kuantitatif yang didasarkan pada pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi deferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase yaitu fase diam dan fase cair yang bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat terpisah berdasarkan perbedaan mobilitas karena perbedaan absorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul dan muatan ion

3 Prinsip

Contoh diekstraksi dengan etil asetat, fraksi etil asetat dipisahkan dengan sentrifuga. Etil asetat diuapkan dengan mengalirkan gas nitrogen sampai kering. Residu dilarutkan dalam campuran hexana-kloroform (1:1), lalu diekstraksi kembali dengan air pro KCKT. Analit dalam air pro KCKT diinjeksikan pada kromatograf yang dilengkapi dengan kolom C-18 dan detektor fotometri pada 278 nm dengan menggunakan fase gerak campuran metanol : air pro KCKT (40:60). Respon KCKT berupa puncak-puncak kromatogram yang mempunyai waktuambat (RT) yang spesifik. Identifikasi puncak dilakukan dengan membandingkan RT contoh terhadap RT standar. Luas puncak kromatogram sebanding dengan jumlah analit tersebut.

4 Peralatan

- Timbangan analitik dengan ketelitian 0,0001 g;
- Blender/food grinder;
- Sentrifugal;
- Vortex;
- Nitrogen evaporator;
- Peralatan gelas;
- Mikropipet;

- h) Membran filter;
- i) *Ultrasonik bath*;
- j) Kolom KCKT C-18 (150 mm x 4,6 mm), 5 μ m atau ekivalen;
- k) Seperangkat alat KCKT yang dilengkapi dengan detektor fotometri.

5 Pereaksi

- a) Aquabides;
- b) Etil asetat p.a;
- c) Hexana p.a;
- d) Kloroform p.a;
- e) Baku pembanding kloramfenikol;
- f) Metanol pro KCKT ;
- g) Air pro KCKT.

6 Penyiapan larutan baku pembanding kloramfenikol

- a) Larutan stok kloramfenikol, timbang seksama 0,1 g baku kloramfenikol pada gelas piala kecil tambahkan 2 ml metanol, aduk hingga homogen kemudian pindahkan ke dalam labu takar 100 ml tepatkan dengan air pro KCKT ($0,1 \text{ g}/100 \text{ ml} = 1000 \mu\text{g/ml}$).
- b) Buat larutan baku 100 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ dan 1 $\mu\text{g/ml}$ dengan mengencerkan larutan stok.
- c) Buat larutan baku kerja 0 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml dan 40 ng/ml dari baku 1 $\mu\text{g/ml}$.

7 Prosedur

- a) Ambil minimal 150 g daging lalu diblender sampai homogen. Timbang dengan seksama contoh yang telah dihomogenkan lebih kurang 5 g dalam tabung reaksi 50 ml.
- b) Tambahkan 2 ml aquabides, kocok dengan *vortex* selama 1 menit dan diamkan selama 10 menit tambahkan 6 ml etil asetat, tutup dan kocok kembali dengan *vortex* selama 1 menit.
- c) Sentrifuga selama 5 menit dengan kecepatan 3.500 rpm hingga diperoleh 3 lapisan
- d) Pipet 4,2 ml lapisan organik (lapisan paling atas). Keringkan pada suhu 30 °C dengan mengalirkan gas Nitrogen hingga tidak ada lagi etil asetat yang tersisa.
- e) Suspensikan residu dengan 1,4 ml campuran hexana-kloroform (1:1), dan tambahkan 0,7 ml air pro KCKT, *vortex* selama 5 menit.
- f) Sentrifuga pada kecepatan 3.500 rpm selama 5 menit, ulangi jika belum terjadi pemisahan sempurna, ambil supernatannya (lapisan bagian atas).
- g) Supernatan siap untuk diinjeksikan ke alat KCKT.
- h) Lakukan pengerjaan blanko 5 ml aquabides pengganti contoh udang dan kerjakan seperti pengerjaan contoh.
- i) Injeksikan kedalam kromatograf secara berurutan larutan blanko baku, baku kerja dari konsentrasi terendah seperti pada 6.c, blanko pereaksi dan contoh. Rekam area puncak kromatogram utama dari masing-masing larutan yang diinjeksikan.

8 Kondisi KCKT

- a) Detektor : UV 278 nm
- b) Kolom : C-18 (150 mm x 4,6 mm), 5 μ m atau ekivalen
- c) Volume injeksi : 100 μ l - 400 μ l
- d) Fase gerak : Metanol pro KCKT: air pro KCKT (40:60).

- e) Laju alir : 1 ml/menit
- f) Pastikan peralatan KCKT berfungsi dengan baik dan lakukan uji kesesuaian sistem.

9 Perhitungan

$$\text{Kandungan kloramfenikol (ng/g)} = \frac{(A_C - A_{BPr})}{(A_C - A_{Bs})} \times C_{std} \times V_A$$

Keterangan:

A_C	: Area contoh
A_{BPr}	: Area blanko pereaksi
A_S	: Area baku
A_{Bs}	: Area blanko baku
C_{std}	: Konsentrasi baku (ng/ml)
V_A	: Volume akhir (ml)
W	: Berat contoh (g)

10 Pelaporan

- a) Jika angka desimal kurang dari 5 (lima) maka pembulatan ke bawah, tetapi bila lebih dari 5 (lima) pembulatan keatas.

CONTOH:

14,454 dibulatkan menjadi 14,45

14,466 dibulatkan menjadi 14,47

- b) Jika angka ke tiga di belakang koma 5 (lima), dan angka kedua genap, maka angka lima tersebut menjadi hilang tetapi bila angka kedua ganjil maka pembulatan ke atas.

CONTOH:

14,765 dibulatkan menjadi 14,76

14,475 dibulatkan menjadi 14,48

11 Keamanan dan keselamatan kerja

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan analisa maka perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- a) Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisa.
- b) Gunakan jas laboratorium selama bekerja.

Bibliografi

Journal Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) Vol. 74 No. 1, 1991. Liquid Chromatography Determination of Chloramphenicol in Calf Tissue: Studies of Stability in Muscle, Kidney and Liver. p. 483-486.











BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.or.id